

THESIS

MUNICH

1966

VERGLEICH VON SECHS
BLUTGLUCOSEBESTIMMUNGSMETHODEN
AUF VERSCHIEDENER
REAKTIONSGRUNDLAGE
(zugleich ein Beitrag zur Bewertung
des Dextrostix-Tests)

Herbert Zilbauer

LANE MEDICAL LIBRARY
STANFORD UNIVERSITY
300 PASTEUR DRIVE
PALO ALTO, CALIF.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

AUS DER MEDIZINISCHEN POLIKLINIK

DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Direktor: Prof. Dr. W. Seitz

VERGLEICH VON SECHS

BLUTGLUCOSEBESTIMMUNGSMETHODEN

AUF VERSCHIEDENER REAKTIONSGRUNDLAGE

(zugleich ein Beitrag

zur Bewertung des Dextrostix-Tests)

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

H e r b e r t Z i l b a u e r

München 1966

Berichterstatter: Priv. Doz. Dr. H. Mehnert

Mitberichterstatter: Prof. Dr. W. Seitz

Dekan: Prof. Dr. M. Kiese

Tag der mündlichen Prüfung: 20.12.1966

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
I. EINLEITUNG	5
II. MATERIAL UND METHODEN	6
1. Untersuchungsgut	6
2. Chemische Methoden	7
A. Reduktionsproben	7
B. o-Toluidin-Test	10
C. Enzymatische Methoden	11
III. ERGEBNISSE (Blutglucosebestimmungen mit den vier Methoden zur Erfassung der "wahren Glucose")	14
A. Auswertung	14
B. Besprechung der Ergebnisse	20
IV. DISKUSSION (Ergebnisse der Blutzuckerbestimmungen mit den vier Methoden zur Erfassung der "wahren Glucose")	25
V. ERGEBNISSE (Blutzuckerbestimmungen mit der Dextrostix-Methode)	29
VI. DISKUSSION (Ergebnisse der Dextrostix-Methode)	34
VII. ZUSAMMENFASSUNG	40
VIII. LITERATURVERZEICHNIS	42

LEBENS LAUF

I. EINLEITUNG

In den letzten Jahren wurden mehrere neue Methoden zur Blutzuckerbestimmung entwickelt, die alle die sogenannte "wahre Glucose" anzeigen sollen. Auch für die Praxis ist es von Bedeutung, zu wissen, was die jeweiligen Blutzuckerbestimmungsmethoden anzeigen bzw. welche Differenzen zwischen den einzelnen Bestimmungsmethoden bestehen.

Der Begriff der "wahren Glucose" geht zurück auf die Differenzen, die zwischen Reduktionsmethoden unter Anwendung der Somogyi-Nelson-Enteaweißung auftraten. Durch die Somogyi-Nelson-Enteaweißung mit Wolframat wird ein Teil der sogenannten Restreduktion mitausgefällt (6). Die Restreduktion soll im allgemeinen etwa 20 mg % betragen; sie bewirkt also, daß bei Verwendung von Reduktionsproben um 20 mg % höhere Werte gemessen werden, als sie der tatsächlichen Konzentration der Blutglucose entsprechen (5). Bei den neueren Methoden wird die Restreduktion aus anderen Gründen nicht miterfaßt. So wird bei den enzymatischen Methoden durch die Spezifität des jeweiligen Verfahrens nur die Glucose bestimmt; andere Substanzen werden nicht in nennenswertem Ausmaß erfaßt. Die Methode mit Hexokinase-Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase wird als die Methode der Wahl überhaupt bezeichnet (13,14). Ihre Störanfälligkeit soll äußerst gering sein. Die mit dieser Methode gewonnenen Ergebnisse sollen der "wahren Glucose" entsprechen. Bei der Glucoseoxydase-Peroxydase-Methode handelt es sich zwar ebenfalls um eine enzymatische Methode, jedoch ist die Störanfälligkeit wesentlich höher (7). Glutathion, Cystein und Ascorbinsäure sollen z.B. zu einer Erniedrigung, Mannose und peroxydähnliche Substanzen zu einer Erhöhung der Werte führen (5). Auch eine zu saure Enteaweißung wirkt störend. Bei dem o-Toluidin-Test handelt es sich um eine Methode, die ebenfalls die "wahre Glucose" anzeigen soll (8). Reaktionsgrundlage stellt eine noch

nicht genau abgeklärte Reaktion zwischen Hexaldosen und o-Toluidin oder anderen Phenolen im stark sauren Milieu dar. Mit einiger Wahrscheinlichkeit handelt es sich um eine Reaktion der Hexaldosen zu furfurolähnlichen Substanzen. Das Verfahren nach Frank-Kirberger ist eine sehr spezifische und empfindliche Reduktionsmethode, bei der durch die Enteiweißung mit Wolframat die Restreduktion ausgefällt wird (6).

Mit diesen vier Methoden, die jede für sich die "wahre Glucose" anzeigen soll, wurden an einem sehr großen Patientenmaterial der Diabetikerambulanz der medizinischen Poliklinik in München vergleichende Untersuchungen durchgeführt. Anschließend sollte in einer statistischen Auswertung der Ergebnisse festgestellt werden, inwieweit die Resultate untereinander differieren. Zusätzlich sollte ein neuer Schnelltest mituntersucht werden, dessen Reaktionsgrundlage die Glucoseoxydase-Peroxydase-Reaktion ist. Auch hier sollte an einem großen Patientenmaterial die Genauigkeit und Reproduzierbarkeit des Testes geprüft werden.

II. MATERIAL UND METHODEN

1. Untersuchungs gut

An 1064 Patienten der Diabetikerambulanz der medizinischen Poliklinik in München wurden vergleichende Untersuchungen mit sechs verschiedenen Methoden durchgeführt. Die Blutentnahme erfolgte wie üblich aus der Fingerbeere. Dabei erhält man Kapillarblut, also arteriovenöses Mischblut. Es muß aber darauf hingewiesen werden, daß die besonders in angelsächsischen Ländern weitverbreitete venöse Blutentnahme für die Bestimmung der Blutglucose Werte liefert, die 5 bis 20 mg % tiefer liegen können als die im kapillaren Mischblut gemessenen. Besonders große Differenzen treten bei Glucosebelastungsproben auf, bei denen die Unterschiede auf die Utilisation der Glucose im peripheren

Gewebe zu beziehen sind. Zur statistischen Auswertung wurden die Differenzen zwischen den einzelnen Bestimmungen ermittelt und der Durchschnittswert sowie die mittlere Abweichung berechnet. Signifikanzprüfungen wurden nach dem t-Test und einem Vorzeichentest vorgenommen. Außerdem wurde das Patientenkollektiv in Klassen mit aufeinanderfolgenden Blutzuckerbereichen eingeteilt. In den Klassen wurde ebenso wie für das Gesamtkollektiv verfahren.

Nachdem die statistische Auswertung der Ergebnisse dieser Untersuchungen vorlag, wurden an drei Tagen jeweils weitere 20 Patienten untersucht. Diese Ergebnisse wurden als Stichproben betrachtet und mit den früheren Resultaten verglichen.

2. C H E M I S C H E M E T H O D E N

A. Reduktionsproben

Das Prinzip der Reduktionsmethoden beruht darauf, daß es bei Erhitzen von Sacchariden mit einer freien Aldehyd- oder Ketogruppe in alkalischem Milieu zur Bildung von Reduktionen kommt. Zugesezte Oxydationsmittel werden von diesen Radikalen reduziert. Bei den quantitativen Bestimmungen mißt man entweder titrimetrisch den Verbrauch an Oxydationsmitteln oder man verwendet zur photometrischen Bestimmung Farbintensitätsveränderungen. Jedoch bestehen zwischen der Menge der reduzierten Substanz und der vorhandenen Zuckermenge keine sicher vorhandenen stöchiometrischen Beziehungen. In der Regel werden ein bis drei Sauerstoffatome pro Molekül Zucker verbraucht; jedoch läuft die Reaktion bei weiterem Erhitzen und sogar beim Stehen bei Zimmertemperaturen weiter; denn auch die Spaltprodukte können noch reduzierend wirken. Es ist daher wichtig, daß genau festgelegte Konzentrations- und Erhitzungsbedingungen eingehalten werden, d.h. z.B. bei unterschiedlicher Erhitzungsdauer werden auch unterschiedliche Werte erhalten.

Restreduktion:

Bei Blutzuckerbestimmungen wirken andere im Blut vorhandene Substanzen ebenfalls reduzierend. Diese sogenannte Restreduktion wird verursacht z.B. durch Kreatinin, Harnsäure, Glucuronsäure, Glutathion und manche Aminosäuren. Durch besondere Methoden können diese Substanzen jedoch größtenteils mitausgefällt werden. Dazu ist z.B. die Enteiweißung mit Cadmiumoxyd- oder Wolframatlösung oder mit Zinksulfat-Bariumhydroxyd geeignet. Die Werte für die "wahre Glucose" liegen um 10 - 20 mg % niedriger als die mit einer anderen Reduktionsmethode gemessenen.

a. Methode nach Crecelius-Seifert:

Bei dieser Methode zur Blutzuckerbestimmung handelt es sich um eine Reduktionsmethode, bei der die Restreduktion mit-erfaßt wird. Allerdings ist eine Fehlerquelle bei der Durchführung der subjektive Vergleich mittels des "Blutzuckerbestimmungsapparates". Die Genauigkeit dieser Methode ist daher besonders von der Sorgfalt des Untersuchers abhängig. Da verschiedene Beurteiler der Farbintensität verschiedene Werte angeben, addiert sich zum Nachweisfehler aus Pipettierungenauigkeit und Verunreinigungen der Glasgeräte etc. noch der Fehler durch die Beurteilung. Um diesen Fehler auszuschalten, wurde die Methode auch von Benedict und Becher auf das Photometer übertragen. Jedoch hat diese Methode nach Benedict und Becher keine größere Bedeutung erlangt, da wesentlich bessere photometrische Methoden vorliegen. Dagegen wird die Methode nach Crecelius-Seifert auch heute noch vielfach in Krankenhäusern angewendet.

Die Enteiweißung erfolgt mit Pikrinsäure. Gleichzeitig wirkt diese Säure aber auch als Oxydationsmittel. Im basischen Milieu wird Pikrinsäure durch reduzierende Substanzen reduziert. Die dabei entstehende Farbe wird als Maß für die Konzentration der vorhandenen reduzierenden Substanzen gewertet.

Reagentien: 1,2 %ige Pikrinsäure
 20 %ige Natronlauge

Durchführung:

0,2 ml Kapillarblut werden in ein Reagenzglas einpipettiert, in dem sich 1,8 ml aqua dest. befinden. Dann gibt man 1,0 ml Pikrinsäurelösung hinzu und schüttelt durch. Das gefällte Eiweiß wird abfiltriert. 1,0 ml Filtrat versetzt man mit 0,1 ml 20 %iger Natronlauge, mischt und kocht genau fünf Minuten. Danach sofort abkühlen und im "Blutzuckerbestimmungsapparat" ablesen.

b. Methode nach Frank-Kirberger:

Die anwesenden Kupfer(II)-Ionen werden durch reduzierende Substanzen zu Cupro-Oxyd reduziert. Das Kupfer(I)-Oxyd reduziert Arsen-Molybdänsäure zu Molybdänblau, das kolorimetrisch bestimmt wird. Durch die Enteiweißung mit Kupfersulfat-Natriumwolframat wird ein Teil der sogenannten Restreduktion mitausgefällt, so daß es sich annähernd um die Bestimmung der "wahren Glucose" handelt.

Reagentien:

1. Isotonische Natriumsulfat-Kupfersulfatlösung:

8,55 g Natriumsulfat und 1,5 g gepulvertes Kupfersulfat in je 100 ml Wasser lösen. Beide Lösungen vereinigen und mit Wasser auf 250,0 ml auffüllen.

2. Natriumwolframatlösung 10 %ig:

5,0 g Natriumwolframat lösen und mit Wasser auf 50,0 ml auffüllen.

3. Kupferreagens:

Lösungen A und B zu gleichen Teilen mischen. Innerhalb von 30 Minuten zu verbrauchen.

Lösung A: 3,25 g Kupfersulfat pulverisieren, in Wasser lösen und auf 250 ml auffüllen.

Lösung B: 12,5 g Natriumbicarbonat und 10,0 g Natriumcarbonat in 180,0 ml Wasser lösen. Diese Pufferlösung dann mit einer Lösung von

10,0 g Kaliumnatriumtartrat in 40,0 ml Wasser vereinigen und mit Wasser auf 250,0 ml auffüllen.

4. Arsenmolybdänsäurereagenz:

- a) 12,5 g gepulvertes Ammoniummolybdat in 100,0 ml Wasser lösen.
- b) 10,5 ml konz. Schwefelsäure ($D=1,84$) unter Rühren in 100 ml Wasser geben, abkühlen.
- c) 1,5 g Natriumarsenat in ca. 20,0 ml Wasser lösen.

Die Lösungen gibt man in der Reihenfolge a - c zusammen, füllt mit Wasser auf 250,0 ml auf und bringt die Lösung in eine braune Flasche mit Schliffstopfen. Das Reagens verbleibt noch 48 Std. bei 37° im Brutschrank und ist dann gebrauchsfähig. Die Lösung zeigt eine rein gelbe Farbe und ist, in brauner Flasche aufbewahrt, einige Monate haltbar. Bei grünstichiger Verfärbung ist die Lösung zu verwerfen.

Durchführung: In ein Zentrifugenglas werden nacheinander 2,0 ml isotonische Natriumsulfat-Kupfersulfatlösung, 0,1 ml 10 %ige Natriumwolframatlösung und 0,05 ml Blut einpipettiert. Nach gutem Durchmischen wird drei Minuten zentrifugiert. Vom Überstand wird 1,0 ml in ein Reagenzglas gegeben, 2,0 ml frisch bereitetes Kupferreagenz werden hinzugefügt, und nach Durchschütteln wird das Reagenzglas für zehn Minuten in ein kochendes Wasserbad gestellt. Nach Abkühlen werden 10,0 ml 1:4 mit aqua dest. verdünntes Arsenmolybdänsäurereagens zupipettiert. Durch kräftiges Schütteln wird die freiwerdende Kohlensäure entfernt.

Anschließend wird bei 578 nm die Extinktion im Photometer gegen einen Reagentienleerwert gemessen. Die Extinktion ist der Konzentration proportional. Am zweckmäßigsten wird ein Vergleichswert mit bekanntem Glucosegehalt mitbestimmt, der dann für die Berechnung als Bezugsgröße dienen kann.

B. o-Toluidin-Test

Das in stark saurem Medium aus Glucose und anderen Aldohexosen entstehende Hydroxymethylfurfurol läßt sich durch Phenole nachweisen. Am geeignetsten erwies sich für den Glucosenachweis o-Toluidin. Verwendung fanden jedoch auch Anthron und Thymol. Es entsteht mit o-Toluidin eine blaugrüne Farbe, deren Extinktionsmaximum etwa bei 623 nm liegt. Glucose, Mannose und Galactose sprechen etwa gleich stark auf die Reaktion an. Die Pentosen (Xylose, Ribose und Arabinose) ergeben etwa 20-25 % der Extinktion der Glucose. Fructose gibt 4 %, Maltose 11 % der Extinktion der Glucose.

Reagentien: 5 %ige Trichloressigsäure
60,0 ml o-Toluidin, Eisessig ad 1000,0.
Zusetzen von 0,15 % Thioharnstoff als
Stabilisator wird empfohlen.

Durchführung: 0,1 ml Blut wird in 1,0 ml Trichloressig (5 %ig) eingeblasen; dann wird fünf Minuten bei 3000 U/min. zentrifugiert. Vom Überstand werden 0,5 ml mit 3,0 ml o-Toluidinreagenz versetzt und acht Minuten im kochenden Wasserbad erhitzt. Bei weiterem Kochen kommt es zur Farbabschwächung.

C. Enzymatische Methoden

In den letzten Jahren gewannen die enzymatischen Methoden zur Bestimmung von Glucose zunehmend an Bedeutung. Sie werden infolge ihrer Einfachheit und Genauigkeit heute nicht nur zu wissenschaftlichen Untersuchungen verwendet, sondern auch zunehmend in Praxislaboratorien durchgeführt.

a. Glucoseoxydase-Peroxydase-Methode

Diese Methode beruht auf der spezifischen Oxydation von Glucose durch Glucoseoxydase zu Gluconsäure. Das dabei entstehende Wasserstoffperoxyd wird durch Peroxydase in Gegenwart eines geeigneten Wasserstoffdonators zu Wasser reduziert. Als Wasserstoffdonator

wird o-Dianisidin verwendet, das in einen rotbraunen Farbstoff übergeht. Die Farbentwicklung gehorcht dem Lambert-Beerschen Gesetz, d.h. die Farbintensität ist der vorhandenen Glucose direkt proportional. Die Ablesung erfolgt am Photometer bei 436 nm. Von anderen Substanzen gibt lediglich die kaum jemals im Untersuchungsmaterial zu erwartende Mannose noch eine positive Reaktion. Fructose stört nicht. Bei Ascorbinsäurewerten von 10 mg % im Blut kommt es zu einer Erniedrigung der Blutglucosewerte um 10 mg %. Allerdings ist bei oraler Zufuhr von Ascorbinsäure sogar in Dosen von 1000 mg nicht damit zu rechnen, daß der Blutascorbinsäurespiegel über 5 mg % ansteigt. Ein solcher Anstieg kann jedoch nach intravenöser Zufuhr von hohen Dosen Ascorbinsäure erfolgen. Ebenfalls führen Glutathion und Cystein zu einer Erniedrigung der Werte, während peroxydähnliche Stoffe, die bei zu starker saurer Enteiweißung entstehen sollen, die Werte anheben. Im Idealfall sollen sich die beiden zuletzt genannten Reaktionen aufheben.

Reagentien: 3,6 %ige Perchlorsäure,
Glucosereagenz,

(Pufferenzymlösung und Chromogenlösung)

Durchführung: In ein Zentrifugenglas mit 1,0 ml 3,6 %iger Perchlorsäure wird zur Enteiweißung 0,1 ml aus dem Ohr läppchen oder der Fingerbeere entnommenes Blut eingeblasen. Nach gutem Durchmischen wird fünf bis zehn Minuten bei 3000 U/min. zentrifugiert. Vom Überstand werden 0,2 ml in 5,0 ml Glucosereagenz (100 Teile Pufferenzymlösung, 1 Teil Chromogenlösung) einpipettiert. Abgelesen wird nach 35 Minuten gegen den Reagentienleerwert. Zur Kontrolle soll ebenfalls ein Standardwert von 100 mg % Glucose (91 mg Glucose/ml nach Enteiweißung) mitbestimmt werden.

b. Glucose-UV-Test mit TPN

Glucose wird durch Hexokinase bei Vorhandensein von ATP zu Glucose-6-Phosphat phosphoryliert. Glucose-6-Phosphat wird durch Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase in Gegenwart von TPN zu 6-Phosphor-Gluconsäure oxydiert. Die Reaktion verläuft stöchiometrisch, so daß das entstehende TPNH der oxydierten Glucose äquivalent ist. TPNH kann bei 340 oder 366 nm am Photometer gemessen werden.

Durchführung: Enteiweißung erfolgt wie bei der Glucose-oxydase-Peroxydase-Methode mit 3,6 %iger Perchlorsäure.

In eine 10 mm-Cuvette werden einpipettiert:

2,60 ml Puffer ($3 \times 10^{-1} \text{M}$ Triäthanolamin, pH 7,5;
 $4 \times 10^{-3} \text{M}$ Magnesiumsulfat),

0,20 ml der Probe nach Enteiweißung,

0,10 ml TPN ($1,2 \times 10^{-2} \text{M}$) und

0,10 ml ATP ($1,6 \times 10^{-2} \text{M}$).

Nach Durchmischung mit Plastikspatel erfolgt Ablesung der Extinktion E_1 . Anschließend werden mit Plastikspatel 0,02 ml Hexokinase-Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase eingemischt; dann wird nach zehn Minuten bei Raumtemperatur erneut abgelesen. Zur genaueren Endwertbestimmung soll man weitere Ablesungen bis zum Stillstand der Reaktion durchführen. Durch Extrapolation auf die Zeit der Zugabe von Hexokinase-Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase erhält man die Extinktion E_2 . Die Extinktionsdifferenz $\Delta E = E_2 - E_1$ ist ein Maß für die vorhandene Glucose. Da bei Vorhandensein von Fructose und Mannose die Reaktion langsam weiterläuft, wird durch mehrere Ablesungen und Extrapolieren auf die Glucose zurückgerechnet.

c. Schnelltest

Zur Differentialdiagnose von Hypoglykämien und Hyperglykämien am Krankenbett steht ein neuentwickelter Schnelltest zur Verfügung (Dextrostix), der auf der

enzymatischen Glucoseoxydasereaktion beruht. Auf den mit Glucoseoxydase, Peroxydase und Wasserstoffdonator (Leukoform des Farbstoffes) imprägnierten Teststreifen, der durch eine semipermeable Membran geschützt ist, wird ein Tropfen Blut aufgetragen. Nach genau 60 Sekunden wird der Bluts tropfen mit kaltem Wasser wieder abgewaschen und die entwickelte Farbe mit einer Farbskala verglichen. Auch bei diesem Test ist das Ergebnis vom subjektiven Farbempfinden des Untersuchers abhängig.

III. E R G E B N I S S E

(Blutzuckerbestimmungen mit den vier Methoden zur Erfassung der "wahren Glucose")

A. AUSWERTUNG

1. Die arithmetischen Mittel der einzelnen Blutglucosebestimmungsmethoden betragen:

o-Toluidin-Test	: Reihe A :	Durchschnittswert 178,2
Methode nach Crecelius-Seifert	: Reihe B :	Durchschnittswert 198,5*
Glucoseoxydase-Peroxydase-Methode:	Reihe C :	Durchschnittswert 186,9
Methode nach Frank und Kirberger	: Reihe D :	Durchschnittswert 180,4
Hexokinase-Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase-Methode	: Reihe E :	Durchschnittswert 190,2

- * In diesem Durchschnittswert sind nicht alle Einzelwerte enthalten, da Werte über 400 mg % aus methodischen Gründen nicht bestimmt werden konnten. Der Mittelwert unter Einschluß aller Einzelwerte wäre also noch höher.

Die Verteilung der Vorzeichen weicht meist vom Zufall ab (Minuszeichen = niedrigere Werte; Pluszeichen = höhere Werte):

Reihe A - Reihe B	946	- /	100	+
Reihe A - Reihe C	709	- /	354	+
Reihe A - Reihe D	582	- /	482	+
Reihe A - Reihe E	788	- /	276	+
Reihe B - Reihe C	204	- /	841	+
Reihe B - Reihe D	107	- /	939	+
Reihe B - Reihe E	195	- /	851	+
Reihe C - Reihe D	370	- /	693	+
Reihe C - Reihe E	617	- /	446	+
Reihe D - Reihe E	766	- /	298	+

Nur bei A - D und C - E ergaben sich zur Vorsicht mahnende Werte. Die 1%-Grenze liegt bei 576/488.

Der Vergleich von je zwei Reihen mit dem t-Test zeigte folgende Werte:

Reihe A und Reihe B:	t = 24,6
Reihe A und Reihe C:	t = 12,2
Reihe A und Reihe D:	t = 5,2
Reihe A und Reihe E:	t = 14,2
Reihe B und Reihe C:	t = 11,3
Reihe B und Reihe D:	t = 21,7
Reihe B und Reihe E:	t = 8,0
Reihe C und Reihe D:	t = 9,3
Reihe C und Reihe E:	t = 6,2
Reihe D und Reihe E:	t = 18,5

Auch hier sind die Unterschiede zwischen A und D sowie zwischen C und E am geringsten. Jedoch ist selbst bei Werten von 3,4 noch eine Signifikanz von 0,1% gegeben.

Eine anschließend durchgeführte Varianzanalyse bestätigte die Ergebnisse. Die weitere Auswertung der Varianzanalyse erfolgte nach der Formel von Scheffé. Dieses Verfahren benutzt sehr strenge Maßstäbe. Folgende Zahlenwerte wurden gefunden:

Reihe A und Reihe B:	39	(signifikant)
Reihe A und Reihe C:	10,3	(signifikant)
Reihe A und Reihe D:	0,7	(nicht signifikant)
Reihe A und Reihe E:	19,7	(signifikant)
Reihe B und Reihe C:	9,2	(signifikant)
Reihe B und Reihe D:	30	(signifikant)
Reihe B und Reihe E:	3,3	(nicht signifikant)
Reihe C und Reihe D:	5,8	(signifikant)
Reihe C und Reihe E:	1,5	(nicht signifikant)
Reihe D und Reihe E:	13,1	(signifikant)

Eine Signifikanz ist anzunehmen bei Werten größer als 3,34. Nach Scheffé bestehen zwischen A und D, B und E und zwischen C und E keine signifikanten Unterschiede. Nach den anderen Testverfahren kann man aber zwischen B und E doch einen wesentlichen Unterschied annehmen.

2. Die vier Testmethoden zur Bestimmung der "wahren Glucose" wurden noch einer eingehenden Untersuchung nach Einteilung in Klassen unterzogen. Dabei wurden die Bestimmungen mit der Methode nach Crecelius-Seifert nicht einbezogen.*

Die Quersummen der 1064 Werte der Versuchsreihen A, B, C und D wurden geordnet (kleinste Quersumme 106, größte Quersumme 2290) und in 11 Gruppen eingeteilt (10 x 100 und 1 x 64). Die Klassenbreite (Tabelle IV) schwankt zwischen 50 (Gruppe 2) und 991 (Gruppe 11).

Die Reihe A (o-Toluidin-Test) zeigt im ersten Abschnitt den höchsten Wert, im zweiten und dritten Abschnitt den zweithöchsten Wert, im vierten Abschnitt den dritthöchsten Wert und schließlich im fünften bis elften Abschnitt den niedrigsten Wert. Bei der Reihe B (Glucoseoxydase-Peroxydase-Methode) verläuft die Entwicklung etwa umgekehrt. Die Reihe C (Methode nach Frank und Kirberger) liegt immer auf dem zweinniedrigsten Platz, während die Reihe D (Hexokinase-Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase-Methode) fast immer am neunsten liegt. Einzelheiten sind Tabelle I zu entnehmen.

* Die mit der Methode nach Crecelius-Seifert erzielten Ergebnisse werden in dieser Arbeit aus den genannten Gründen nicht weiter besprochen.

Um die Zahlenwerte innerhalb der einzelnen Abschnitte besser miteinander vergleichbar zu machen, wurden alle 1064 Quersummen mit denjenigen Faktoren multipliziert, die 1000 als Produkt ergeben. Die jeweiligen Einzelwerte der Reihen A bis D wurden mit den gleichen Faktoren multipliziert. Dadurch wurde erreicht, daß nur noch zufällige und wesentliche Abweichungen auftreten. Alle durch das allmähliche Ansteigen der Reihen bedingten Veränderungen wurden beseitigt (Tabelle 2). Eine überschlägige Berechnung von Signifikanzen nach dem t-Test ergab, daß nicht in allen Abschnitten signifikante Unterschiede zwischen den Reihen bestehen, obwohl früher für die gesamten Reihen signifikante Differenzen gefunden wurden (Tabelle III).

Interessant ist ferner die Streuung der einzelnen Mittelwerte der Abschnitte in den einzelnen Reihen und der gesamte Mittelwert. Bei den Reihen A und B ist die Streuung mit 8,3 und 8,0 ziemlich groß, bei Reihe C und D mit 2,0 und 1,3 dagegen verhältnismäßig gering. Die vorliegenden Beobachtungen lassen die Reihe C am vorteilhaftesten erscheinen. Die Reihe A zeigt bis auf den ersten Abschnitt ebenfalls gute Werte. Reihe D liegt mit deutlichem Abstand über den anderen Reihen. Reihe B zeigt in den ersten Abschnitten gute Werte, die jedoch später erheblich schlechter werden.

Tabelle I

Durchschnittswerte der Reihen (absolute Werte)

Reihe A	Reihe B	Reihe C	Reihe D	Durchschnitt
80,69	73,32	76,69	79,12	77,46
99,80	95,24	97,08	101,31	98,36
113,78	109,81	113,04	117,66	113,57
131,55	132,35	130,31	137,23	132,86
152,13	156,49	152,66	160,49	155,44
169,61	178,43	173,02	183,50	176,14
191,27	201,94	194,83	205,39	198,36
211,35	230,29	214,47	226,28	220,60
237,98	253,79	246,35	260,83	249,74
276,36	305,33	285,24	300,49	291,86
361,625	393,31	368,44	393,00	379,50

Tabelle II

Durchschnittswerte der Reihen (standardisierte Werte)

Reihe A	Reihe B	Reihe C	Reihe D
261,35	235,86	244,65	256,65
253,25	241,68	246,38	256,95
249,84	241,19	248,18	258,48
246,85	248,37	244,55	257,46
244,03	250,93	244,86	257,37
239,86	252,35	244,63	259,43
240,20	253,61	244,60	257,82
238,33	259,81	242,01	255,39
236,94	252,83	245,34	259,65
235,39	260,07	242,84	255,87
235,69	257,75	240,89	256,83
Durchschnitt			
243,79	250,40	244,44	257,44
Streuung			
8,28	7,95	2,00	1,34

Tabelle III

Differenzen der einzelnen Reihen

A - B	A - C	A - D	B - C	B - D	C - D
+25,49 S	+16,70 S	+ 4,70 S	- 8,79 S	-20,79 S	-12,00 S
+11,57 S	+ 6,87 S	- 3,70	- 4,70 S	-15,27 S	-10,57 S
+ 8,65 S	+ 1,66	- 8,64 S	- 6,99 S	-17,29 S	-10,30 S
- 1,52	+ 2,30	-10,61 S	+ 3,82	- 9,09 S	-12,91 S
- 6,90 S	- 0,83	-13,34 S	+ 6,07 S	- 6,44 S	-12,51 S
-12,49 S	- 4,77 S	-19,57 S	+ 7,72 S	- 7,08 S	-14,80 S
-13,41 S	- 4,40 S	-17,62 S	+ 9,01 S	- 4,21 S	-13,22 S
-21,48 S	- 3,68	-17,06 S	+17,80 S	+ 4,42 S	-13,38 S
-15,89 S	- 8,40 S	-22,71 S	+ 7,49 S	- 6,82 S	-14,31 S
-24,68 S	- 7,45 S	-20,48 S	+17,23 S	+ 4,20 S	-13,03 S
-22,06 S	- 5,20 S	-21,14 S	+16,86 S	+ 0,92	-15,94 S

S = signifikant

Tabelle IV

Klassenbreite

Untergrenze	Obergrenze	Differenz	Differenz:4
106	368	262	65,5
369	419	50	12,5
420	490	70	17,5
491	581	90	22,5
582	664	82	20,5
667	744	77	19,25
746	839	93	23,25
839	936	97	24,25
936	1070	134	33,5
1072	1298	226	56,5
1299	2290	991	247,75

B. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

Obwohl mit jeder der vier Methoden die sogenannte "wahre Glucose" bestimmt werden soll, ist es nicht von vornherein sicher, daß die mit den jeweiligen Verfahren erzielten Werte wirklich genau übereinstimmen; denn jede der vier Methoden beruht auf einer anderen Reaktionsgrundlage. Zu Beginn der Untersuchungen wurden Eichkurven angelegt, um festzustellen, ob und inwieweit das Lambert-Beersche Gesetz erfüllt ist. Dabei konnte eine lineare Beziehung zwischen Konzentration der Prüfsubstanzlösung und Extinktion festgestellt werden.

Bei der Hexokinase-Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase-Methode ist die obere Nachweisgrenze durch die beim Ansatz hinzugefügte Menge an TPN und ATP limitiert. Sobald diese beiden Substrate verbraucht sind, kann die Reaktion nicht mehr weiterlaufen.

Bei der Glucoseoxydase-Peroxydase-Methode ist die Dauer des Reaktionsablaufes von der Sauerstoffkonzentration im Reaktionsmedium abhängig. Bei der von Glucoseoxydase katalysierten Reaktion zwischen Glucose und Sauerstoff zu Gluconsäure und Wasser wird molekularer Sauerstoff benötigt. Dieser muß also im Reaktionsmedium vorhanden sein. Frisch zubereitetes aqua bidest. z.B. enthält wenig Sauerstoff; die Reaktion in Reagenzien, die mit solchem aqua bidest. angesetzt sind, kommt daher bald zum Stehen, wenn nicht sehr gut geschüttelt wird. Wir haben daher regelmäßig die Reagenzgläser, sobald die Lösungen einpipettiert waren, verschlossen und bis zur Schaumbildung durchgeschüttelt. Dadurch erreichten wir, daß die Eichkurven bis in hohe Bereiche vollständig linear verlaufen, daß also auch hohe Glucosekonzentrationen ohne vorherige Verdünnung gemessen werden konnten.

Ähnliche Schwierigkeiten sind beim o-Toluidin-Test und bei der Methode nach Frank und Kirberger nicht zu erwarten. Die Eichkurven für diese beiden Methoden zeigen bis in hohe Bereiche Linearität. Beim o-Toluidin-Test ergeben

sich Nachteile, die beim Ablesen am Photometer auftreten. Der Grund dafür ist die entstehende blaugrüne Farbe, die im Rotbereich abgelesen werden muß. Die in diesem Bereich vorhandene Quecksilberlinie (Hg 623 nm) ist relativ schwach und kann nur mit entsprechender Verstärkung verwendet werden; mit manchen Photometern kann in diesem Bereich überhaupt nicht abgelesen werden. Man kann allerdings auf die Quecksilberlinie 576 nm ausweichen. Hier ist die Extinktion des Standards etwa um die Hälfte geringer, d.h. die Meßgenauigkeit bzw. Trennschärfe ist wesentlich kleiner und damit die Genauigkeit verringert. Bei Hg 623 nm ist dagegen infolge der großen Verstärkung damit zu rechnen, daß die Fehler durch die Benutzung des Photometers, wie z.B. Stromschwankungen, die nicht mehr völlig ausgeglichen werden können, wesentlich stärker ins Gewicht fallen. Es muß bei Verwendung dieser Spektrallinie daher häufig nachjustiert werden. Daneben soll noch darauf hingewiesen werden, daß durch die langsamere Einstellgeschwindigkeit des Galvanometers die Ablesung bei dieser Spektrallinie stark verzögert wird.

Bei der Auswertung und dem Vergleich der mit den vier Methoden erzielten Ergebnisse wurde zuerst die durchschnittliche Differenz der vier Methoden untereinander ermittelt. Hierbei zeigte es sich, daß der o-Toluidin-Test die im Durchschnitt niedrigsten Werte ergab.

Nur wenig höher waren die mit der Methode nach Frank-Kirberger ermittelten Werte, während die mit den beiden enzymatischen Methoden gefundenen Blutzuckerwerte deutlich und statistisch signifikant höher lagen. Die Differenz von 11 mg % zwischen o-Toluidin-Methode und der Hexokinase-Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase-Methode ist so hoch, daß eine genauere Ermittlung der Ursachen dieser Abweichung erforderlich ist. Die Hexokinase-Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase-Methode soll der einzige Nachweis sein, mit dem wirklich die "wahre Glucose" ermittelt wird (13,14). Es stellt sich die Frage, ob diese Werte zu hoch sind, oder ob die mit der Methode nach Frank-Kirberger oder der

o-Toluidin-Methode ermittelten Werte zu niedrig liegen. Wir haben aus diesem Grunde eine weitere statistische Auswertung durchgeführt. Dabei wurden die mit dem Werte der vier Methoden gewonnenen Ergebnisse summiert und dann nach diesem Summenwert geordnet. Sodann wurde in elf Klassen unterteilt. Die ersten zehn Klassen erhielten jeweils 100 Werte zugeteilt, die elfte Klasse die restlichen 64 Werte. Nun wurde der Durchschnittswert in den einzelnen Klassen für jede Methode ermittelt. Dabei zeigte es sich, daß der Nachweis nach Frank-Kirberger am wenigsten vom Gesamtdurchschnittswert abwich, während die mit Hexokinase-Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase erzielten Resultate die höchsten Abweichungen ergaben. Die Ergebnisse der Glucose-oxydase-Methode liegen bis 132 mg% (Klasse 4) niedriger als der Gesamtdurchschnitt und von hier ab immer über dem Gesamtdurchschnitt. In den beiden obersten Klassen sind die Werte im Durchschnitt sogar höher als die mit der Hexokinase-Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase-Methode ermittelten Werte. Demgegenüber liegt der o-Toluidin-Test im unteren Bereich höher als der Gesamtdurchschnitt (Klasse 1-3) und im oberen Bereich teilweise sehr stark unter dem Gesamtdurchschnitt. Zur weiteren Untersuchung dieses überraschenden Ergebnisses wurden die bei den Einzeluntersuchungen erzielten Werte standardisiert. Die Summe aller vier Werte wurde dabei mit einem Faktor multipliziert. Der Faktor wurde so gewählt, daß sich als Produkt immer 1000 ergab. Anschließend wurde jeder Einzelwert mit dem gleichen Faktor multipliziert. Dann wurde wiederum der Durchschnittswert in den einzelnen Klassen (siehe oben) ermittelt. Bei der Betrachtung dieser standardisierten Werte zeigte es sich nun, daß der Nachweis nach Frank-Kirberger immer etwa gleich weit unterhalb des Durchschnittswertes liegt, während sich die Werte der Hexokinase-Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase-Methode immer gleich weit oberhalb des Durchschnittswertes befinden. Für die beiden anderen Methoden läßt sich das bereits geschilderte Ergebnis bestätigen.

Nach der statistischen Analyse haben die Ergebnisse, die mit der Methode nach Frank-Kirberger und mit der Hexokinase-Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase-Methode gewonnen wurden, die größte Konstanz. Es ist nicht zu erwarten, daß die Abweichungen der beiden anderen Tests zufälliger Natur sind. Beim Nachweis nach Frank-Kirberger wird durch die Enteiweißung der größte Teil der Restreduktion mitausgefällt. Dieser Nachweis ist seit Jahrzehnten erprobt und bewährt. Die Werte können nur wenig oberhalb des "wahren Blutzuckers" liegen. Es ist unwahrscheinlich, daß durch die Enteiweißung Glucose mitausgefällt wird. Nehmen wir an, daß diese Werte der "wahren Glucose" entsprechen, so liegen die anderen Testmethoden teilweise zu hohe Werte für die "wahre Glucose". Die beste Übereinstimmung zeigt der o-Toluidin-Test, der nur in der ersten Klasse mit 4 mg % höher liegt und in der zweiten Klasse um 2,8 mg %. Diese beiden Differenzen sind signifikant ($p = 0,05$). In den folgenden Klassen sind die Unterschiede nicht signifikant, erst in den letzten drei Klassen liegen die mit dem o-Toluidin-Test erzielten Ergebnisse signifikant unterhalb der Ergebnisse, die mit der Methode nach Frank-Kirberger gewonnen wurden. Die mit der Glucoseoxydase-Methode ermittelten Ergebnisse sind in den ersten drei Klassen signifikant niedriger und in den letzten sieben Klassen signifikant höher als die Ergebnisse, die mit der Methode nach Frank-Kirberger erzielt wurden. Die Ergebnisse mit der Hexokinase-Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase-Methode sind dagegen immer signifikant höher als die Ergebnisse nach Frank-Kirberger.

In weiteren Untersuchungen wurde festgestellt, daß das Blutserum und die Erythrozyten von Diabetikerblut jede für sich die gleiche Abweichung nach oben mit der Glucoseoxydase-Methode und Hexokinase-Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase-Methode gegenüber dem Nachweis nach Frank-Kirberger haben. Es konnte sich also nicht um eine Substanz handeln, die aus den Erythrozyten stammt, wie z.B. Glucose-6-Phosphat. Wir haben zusätzlich noch bei der

Hexokinase-Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase-Methode die Enzyme getrennt und die Hexokinase sowie Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase nacheinander zugesetzt und untersucht, ob bereits eine Reaktion stattfindet, wenn noch eines der beiden Enzyme fehlt. Das war jedoch nicht der Fall. Uns fiel aber auf, daß die Reaktion nach Zusatz des zweiten Enzyms bereits nach drei bis fünf Minuten zum Stehen kam, während sonst häufig nach 20 und mehr Minuten noch kein Stillstand der Reaktion zu erkennen war. In dem ersteren Fall war daher eine Extrapolation überflüssig, während wir im allgemeinen gezwungen waren, zu extrapolieren (nach Testvorschrift), wenn wir die Testpackungen verwendeten. Danach wäre eine Ursache des fälschlich zu hohen Ergebnisses mit der Hexokinase-Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase-Methode in einer zu niedrigen Enzymkonzentration in den Testpackungen zu suchen.

Differenzen zwischen den eigenen Ergebnissen und den in der Literatur angegebenen Resultaten sind sicher zum Teil methodisch bedingt. So wurde z.B. für die Hexokinase-Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase-Methode nie der Standardwert mitbestimmt. In der Arbeit von BARTELMAI und CZOK (1) sind im Durchschnitt die mit der Hexokinase-Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase-Methode gewonnenen Ergebnisse höher als die mit der Glucoseoxydase-Methode bestimmten. Leider ist die dort verwendete Methode nach Hagedorn-Jensen keine echte Referenzmethode, da mit dieser Methode die variable Restreduktion miterfaßt wird. In einigen weiteren Arbeiten wird der o-Toluidin-Test mit der Glucoseoxydase-Methode verglichen. Hierbei wird zum Teil eine sehr gute Übereinstimmung gefunden. Leider fehlen Angaben über die Standardisierung und über die sonstige Behandlung der Ergebnisse.

IV. DISKUSSION

(Ergebnisse der Blutzuckerbestimmungen mit den vier Methoden zur Erfassung der "wahren Glucose")

Durch die Entwicklung der neuen Methoden zur Bestimmung des Blutzuckers wurde in der Literatur eine gewisse Verwirrung gestiftet. Der Arzt fragt sich zu Recht, was nun eigentlich die "wahre Glucose" ist, welche Methode die Werte, die unter der "wahren Glucose" zu verstehen sind, liefert, und in welcher Beziehung die einzelnen Methoden zueinander stehen. Bei der Durchsicht der gesamten Literatur erschien es notwendig, einen umfassenden Vergleich der vier möglichen Bestimmungen der "wahren Glucose" durchzuführen. Es gibt nur eine Arbeit, bei der ein solcher Vergleich angestellt wurde; jedoch wurden dabei weder die Einzelwerte noch deren statistische Auswertung wiedergegeben (13,14). Alle anderen Arbeiten führten nur einen Vergleich zwischen zwei verschiedenen Methoden durch (4). Eine umfassende Arbeit mit größerem Material und statistischer Auswertung für die Blutzuckerbestimmung mit Hexokinase-Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase liegt unseres Wissens überhaupt nicht vor. Die wenigen Arbeiten beinhalten eine viel zu geringe Zahl von Untersuchungen, um eine statistische Aussage zu ermöglichen. Zudem wurde in keinem Fall ein gemeinsamer Eichwert (=Standardwert) mitbestimmt. Die Bedeutung des Eichwertes wird vielfach unterschätzt. Mit einem Eichwert erhält man eine echte Bezugsgröße, die allen Nachweismethoden gemeinsam ist. Nur ein solcher Wert erlaubt einen Vergleich zwischen zwei oder mehreren verschiedenen Methoden. Ohne gemeinsamen Eichwert (z.B. Verwendung der in den Testpackungen mitgelieferten Standardlösungen bei jedem einzelnen Test für sich) ist ein Vergleich nicht möglich, da vorher der Nachweis angetreten werden sollte, daß die einzelnen Standardlösungen wirklich die gleiche Glucosekonzentration haben. Bei einer gemeinsamen Eichlösung für alle Tests fällt

dagegen z.B. jeder Einwaagefehler oder auch jeder Fehler beim Ansetzen der Standardlösung heraus.

Ein weiteres wesentliches Prinzip für vergleichende Untersuchungen ist die Durchführung der einzelnen Untersuchungen unter genormten, vorher festgelegten Bedingungen, die einen statistischen Vergleich zulassen. So ist z.B. festzustellen, ob mehrere Blutentnahmen vom gleichen Patienten zum gleichen Zeitpunkt zu Veränderungen der Ergebnisse führen. Ferner ist erforderlich, daß die Eichlösungen in allen Untersuchungen vollständig gleich behandelt werden, daß sie z.B. täglich frisch angesetzt werden und daß die "Enteimiung" der Eichlösungen immer zum gleichen Zeitpunkt durchgeführt wird. Ferner sollte das Untersuchungsmaterial in einem möglich kurzen Zeitraum aufgearbeitet werden. Es ist selbstverständlich abzulehnen, daß der eine Nachweis am Tag der Blutentnahme durchgeführt wird, der andere jedoch einen Tag später. Am günstigsten ist eine Veränderung der Reihenfolge, in der die einzelnen Nachweise gemacht werden, so daß z.B. Nachweis A an einem Tag als erster, Nachweis B am nächsten Tag als erster durchgeführt wird. Dieses Prinzip wurde von uns befolgt. Ein weiterer sehr wichtiger Faktor ist, daß immer die gleiche Person die einzelnen Nachweise durchführt. Auch diese Forderung wurde in dieser Arbeit erfüllt.

Eine selbstverständliche Voraussetzung, die eigentlich gar nicht erwähnt werden braucht, ist die einer sorgfältigen Reinigung der Glasgeräte. Vielfach wird diese Forderung unterschätzt, obwohl die meisten Nachweise sehr empfindlich gegen Reste von Glasreinigungsmitteln sind. Die Reinigung mit Chromschwefelsäure und anschließend mehrmaliges Nachspülen mit aqua dest. ist unerlässlich. Wir haben Untersuchungen angestellt, bei denen die Reinigung der Glasgeräte bewußt nur oberflächlich vorgenommen wurde. Dabei bemerkten wir, daß der o-Toluidin-Test zu hohe Werte

ergab. Für den Nachweis nach Frank-Kirberger gilt das Gleiche.

Natürlich müssen auch die Testvorschriften genauestens beachtet werden. So führt z.B. eine unterschiedliche Kochzeit beim Nachweis nach Frank-Kirberger und beim o-Toluidin-Test zu Fehlern. Das Gleiche geschieht, wenn im Wasserbad zu wenig Wasser ist.

Wenn man alle diese angeführten Kriterien beachtet, erhält man für die verschiedenen Methoden zur Bestimmung der "wahren Glucose" Ergebnisse, die so wenig voneinander abweichen, daß für die Praxis zwischen den einzelnen Ergebnissen nicht unterschieden werden braucht.

In dem für die Diagnose Diabetes mellitus wichtigen Bereich zwischen 100 - 200 mg % differieren die Ergebnisse der einzelnen Methoden so gering, daß die methodischen Fehler eines Nachweises vielfach größere Abweichungen ergeben können als die Differenz zwischen zwei Methoden. Andererseits zeigen die Ergebnisse aber, daß die Festsetzung eines Grenzwertes für die Diagnose Diabetes mellitus (z.B. Zweistundenwert bei oraler Glucosebelastung über 120 mg %) lediglich ein Hilfsmittel ist, das bei Grenzfällen eine Wiederholung der Untersuchung erfordert. D.h. in einem solchen Fall müßten theoretisch alle Werte zwischen 110 und 130 mg % nachkontrolliert werden, da die methodischen Fehler der einzelnen Tests mindestens $\pm 5\%$ in diesem Bereich betragen, und außerdem bei einer solchen Normierung die Differenz zwischen den einzelnen Methoden keine Berücksichtigung gefunden hat. Die Differenz zwischen der Methode, die den niedrigsten Wert in diesem Bereich (Glucoseoxydase-Peroxydase-Methode) und der Methode, die den höchsten Wert (Hexokinase-Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase-Methode) liefert, beträgt z.B. 8 mg %. D.h. ein Patient, bei dem nach der einen Methode zur Bestimmung der "wahren Glucose" die Diagnose Diabetes mellitus gestellt wurde, erweist sich bei Wiederholung mit einem anderen Verfahren zur

Bestimmung der "wahren Glucose" noch als stoffwechselgesund.

Für wissenschaftliche Untersuchungen ist vielfach eine erhöhte Genauigkeit erforderlich. Meist genügt in diesen Fällen bereits, alle Bestimmungen mit der gleichen Methode durchzuführen. Andernfalls ist es bis heute noch nicht möglich anzugeben, mit welcher Methode nun wirklich die "wahre Glucose" bestimmt wird. Viel Wahrscheinlichkeit für sich hat die Annahme, daß die Methode nach Frank und Kirberger in diesen Fällen die Methode der Wahl sein könnte. Bei exakter Durchführung fanden wir gut reproduzierbare Ergebnisse, allerdings war der Zeitaufwand größer als bei dem o-Toluidin-Test oder der Glucoseoxydase-Peroxydase-Methode. Überraschend war, daß bei unseren Untersuchungen die Hexokinase-Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase-Methode relativ hoch über dem Durchschnitt liegende Werte ergab. Bei unseren Resultaten ist zu berücksichtigen, daß sie Ende 1965 abgeschlossen wurden. Es ist nämlich aufgefallen, daß inzwischen die Reaktion früher zum Stehen kommt, daß also der sogenannte "Schleim" wegfällt, der ein Extrapolieren nötig machte. Es ist möglich, daß damit auch die Gesamtwerte niedriger liegen würden, wie wir bei einem kleineren Kollektiv unter Verwendung reiner Enzyme festgestellt haben.

Wir stellen aufgrund unserer Untersuchungen nicht eine einzelne Methode besonders heraus und gehen zum Abschluß noch einmal kurz auf die Vorteile und Nachteile der einzelnen Methoden ein. Die Reduktionsmethode nach Frank und Kirberger erfordert einen relativ hohen Zeitaufwand (fünf bis sieben Minuten pro Einzelbestimmung) bei niedrigen Materialkosten (4 bis 5 Pfennig). Ungenaueres Arbeiten fällt gegenüber der Glucoseoxydase-Peroxydase-Methode und dem o-Toluidin-Test ins Gewicht, da die Zahl der Einzelpipettierungen größer ist. Die o-Toluidin-Methode ist bei eigener Zusammenstellung der Reagenzien etwa genauso teuer wie die Methode nach Frank und Kirberger. Hier ist der größte Nach-

teil die Verwendung von stark ätzender konzentrierter Essigsäure zur Reaktion; außerdem halten wir ebenfalls für nachteilig, daß im langwelligen Bereich gearbeitet werden muß. Am günstigsten ist die leider nur sehr schwache Quecksilberlinie 623 nm. Bei Verwendung der stärkeren Quecksilberlinie 578 nm beträgt die Extinktion nur noch etwa 50 % der Extinktion bei 623 nm.

Der Preis der o-Toluidin-Methode ist bei Verwendung der Testpackung genauso hoch wie bei der Glucoseoxydase-Methode. Die selbst angesetzte Reagenzienlösung ist nur kurze Zeit haltbar. Die Glucoseoxydase-Peroxydase-Methode liefert gut reproduzierbare Werte bei geringem Arbeitsaufwand. Die Hexokinase-Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase-Methode ist nicht nur die teuerste, sondern auch die Methode, die den größten Zeitaufwand erfordert. Für Routineuntersuchungen ist sie daher völlig ungeeignet, für wissenschaftliche Untersuchungen bringt sie gegenüber den anderen Methoden im allgemeinen wenig Vorteile. Wir würden den drei anderen Methoden aus diesen Gründen den Vorzug geben.

V. E R G E B N I S S E

(Blutzuckerbestimmungen mit der Dextröstix-Methode)

Tabelle V

Vergleichende Blutglucosebestimmungen mit der Dextröstix-Methode bzw. mit vier Methoden zur Erfassung der "wahren Glucose".

Tabelle VI

Vergleich der Ergebnisse verschiedener Prüfer mit der Dextröstix-Methode bei 51 Patienten. Jeder Prüfer beurteilte den gleichen Teststreifen.

Tabelle VII

Vergleich der Ergebnisse verschiedener Prüfer mit der Dextröstix-Methode bei 50 Patienten. Jeder Prüfer beurteilte einen von ihm selbst präparierten Teststreifen des jeweiligen Patienten.

Tabelle VI

Vergleich der Ergebnisse verschiedener Prüfer mit der Dextrostixmethode bei 51 Patienten. Jeder Prüfer beurteilte den gleichen Teststreifen.

a. Abweichungen vom richtigen Ergebnis in mg%:

	<u>richtig</u>	<u>± 20 mg%</u>	<u>± 40 mg%</u>	<u>± 60 mg%</u>	<u>über 60 mg%</u>
1. Prüfer:	14	18	9	4	6
2. Prüfer:	19	18	9	2	3
3. Prüfer:	24	12	7	2	6
4. Prüfer:	21	16	9	2	3
5. Prüfer:	21	14	11	2	3
6. Prüfer:	26	16	6	1	2
	41 %	31 %	17 %	4 %	7 %

b. Abweichungen vom richtigen Ergebnis in Schätzbereichen:

	<u>richtig</u>	<u>± 1 Bereich</u>	<u>± 2 Bereiche</u>	<u>über 2 Bereiche</u>
1. Prüfer:	14	33	4	-
2. Prüfer:	19	28	4	-
3. Prüfer:	24	24	3	-
4. Prüfer:	21	27	2	1
5. Prüfer:	21	24	5	1
6. Prüfer:	26	22	3	-
	41 %	51 %	7 %	1 %

(Alle Untersucher beurteilten den gleichen Dextrostixstreifen)

Tabelle VII

Vergleich der Ergebnisse verschiedener Prüfer mit der Dextrostixmethode bei 50 Patienten. Jeder Prüfer beurteilte einen von ihm selbst präparierten Teststreifen des jeweiligen Patienten:

a. Abweichungen vom richtigen Ergebnis in mg%:

	<u>richtig</u>	<u>± 20 mg%</u>	<u>± 40 mg%</u>	<u>± 60 mg%</u>	<u>über 60 mg%</u>
1. Prüfer:	27	16	5	2	-
2. Prüfer:	16	21	7	4	2
3. Prüfer:	17	13	8	6	6
4. Prüfer:	19	20	4	7	-
5. Prüfer:	13	17	9	7	4
6. Prüfer:	25	17	4	4	-
	39 %	35 %	12 %	10 %	4 %

b. Abweichungen vom richtigen Ergebnis in Schätzbereichen:

	<u>richtig</u>	<u>± 1 Bereich</u>	<u>± 2 Bereiche</u>	<u>über 2 Bereiche</u>
1. Prüfer:	27	22	1	-
2. Prüfer:	16	31	3	-
3. Prüfer:	17	22	10	1
4. Prüfer:	19	28	3	-
5. Prüfer:	13	25	12	-
6. Prüfer:	25	23	2	-
	39 %	50 %	10 %	

Vergleichende Blutglucosebestimmungen mit der Dextrostixmethode,
bzw. mit Methoden zur Erfassung der „wahren Glucose“ (n=1164)
Verteilung in Prozent

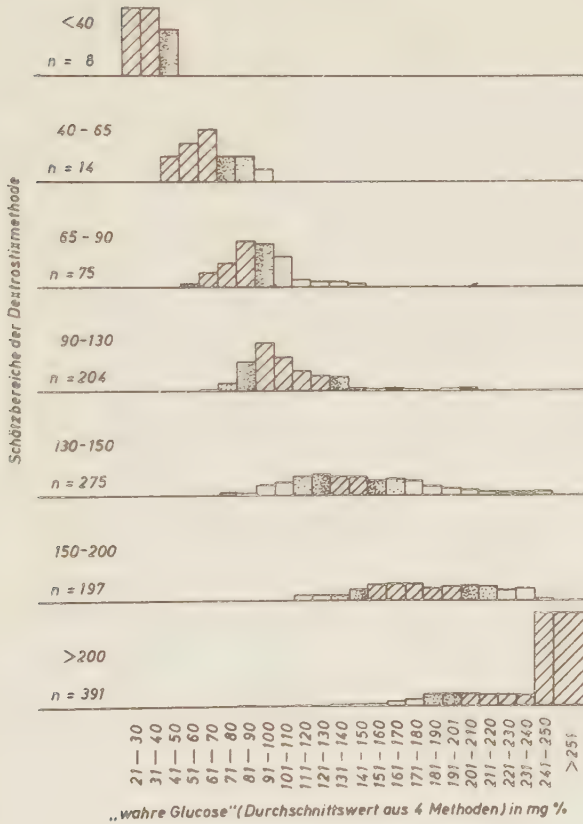


ABBILDUNG I

VI. DISKUSSION

(Ergebnisse der Dextrostix-Methode)

Mit der Dextrostix-Methode soll dem Arzt eine leistungsfähige Schnellbestimmungsmethode zur Erfassung der Blutglucose in die Hand gegeben werden. Man darf von einer solchen Methode nicht zu viel erwarten und zu viel fordern. Die sichere Unterscheidung zwischen Hypoglykämie und Hyperglykämie, zwischen zwei Zuständen also, die verschiedene therapeutische Konsequenzen nach sich ziehen, ist bereits ein Grund, der für die Einführung einer solchen Methode spricht. Wenn nun zusätzlich auch noch feinere Abstufungen erfaßt werden können, ist das als zusätzlicher Vorteil zu werten. In einer groß angelegten Untersuchungsreihe haben wir insgesamt 1164 Bestimmungen der Blutglucose an Patienten der Diabetikerambulanz mit dieser Methode durchgeführt. Die Werte wurden anschließend mit den derzeit bekannten Methoden zur Bestimmung der "wahren Glucose" (siehe oben) kontrolliert und zum Durchschnittswert dieser vier Bestimmungen in Bezug gesetzt. Das Ergebnis ist aus Abbildung I zu ersehen.

Bei der Schätzung der Dextrostix-Werte kann man nach zwei Methoden verfahren: Einmal kann man die jeweilige Farbe des Teststreifens mit der Farbskala vergleichen und die Blutzuckerkonzentration angeben, die der Farbe am nächsten kommt (=Punktschätzen); zum anderen kann man aber auch den Bereich schätzen, in dem die Farbe liegt. Man kann auch beide Methoden nebeneinander verwenden. Jedoch glauben wir, daß das Verfahren des Bereichschätzens das der Wahl sein sollte. Die Aussage, eine Farbe liegt näher bei der Farbmarke 130 mg % als bei 150 mg %, ist unseres Erachtens wesentlich schwieriger als die Aussage, die Farbe ist dunkler als die Farbmarke bei 130 mg %, aber heller als die bei 150 mg %, liegt also zwischen 130 und 150 mg %. Die letztere Entscheidung ist auch bei Berücksichtigung der Abstände der Farbmarken auf den Testpackungen die

mögliche und entspricht auch der beschränkten Genauigkeit dieser Methode, die nur eine halbquantitative Bestimmung darstellt und auf einer subjektiven Schätzung beruht. Bei der Angabe "130 mg % Blutglucose" nach Dextrostix z.B. würde das wahre Urteil des Prüfers nicht wiedergegeben; denn das Urteil lautet nicht "130 mg %", sondern "am ehesten sind 130 mg % Glucosekonzentration zu erwarten". Das gleiche Urteil würde auch gelten, wenn der Prüfer angibt, der zu erwartende Wert liegt "zwischen 130 mg % und 150 mg % oder zwischen 90 mg % und 130 mg %, aber näher an 130 mg %". Bei der Angabe "zwischen 130 mg % und 150 mg %" gibt der Untersucher zu, daß er eine Schätzung vorgenommen hat und der Ansicht ist, daß am ehesten in diesem Bereich der wahre Wert zu suchen ist. Damit wird nicht eine Genauigkeit vorgegaukelt, die methodisch nicht zu erwarten ist. Die Wahrscheinlichkeit eines Treffers beim Bereichschätzen ist größer als beim Punktschätzen. Es ist selbstverständlich, daß man mit der Dextrostixbestimmung nicht immer das richtige Ergebnis erhalten kann. Unsere Untersuchungen unterscheiden sich von denen anderer Autoren vor allem dadurch, daß wir eine größere Zahl an Einzeluntersuchungen durchgeführt haben und daß wir bei unseren Patienten nicht von vornherein ein bestimmtes Ergebnis vermuten konnten. Bei nüchternen Normalpersonen z.B. wird man immer dazu tendieren, zwischen "65 - 90 mg % Blutglucose" zu schätzen. Wenn dann bei einer größeren Anzahl von Untersuchungen ein höherer Blutzuckerkonzentrationswert auch in diesem Bereich geschätzt wird, so ist der prozentuale Fehler nur gering. Das Gleiche gilt bei der Verwendung von Dextrostix zur Blutglucosebestimmung bei Glucosebelastungsproben. Hier wird wohl kaum jemand nach 30 Minuten den Bereich "zwischen 65 mg % und 90 mg %", sondern den "zwischen 130 mg % und 150 mg %" bevorzugen.

Damit ist aber statistisch eine Auslese getroffen worden, bei der keine echten Werte mehr vorliegen; denn subjektiv wird das Urteil des Schätzenden zwangsläufig durch seine

Erfahrung beeinflusst. Die objektivste Methode ist ein Vorgehen ohne Kenntnis des Patienten und seiner Anamnese. Diese Forderung ist auch dann erfüllt, wenn die Untersuchung im Laboratorium von einer neutralen Person vorgenommen wird. Die Ergebnisse, die wir erhalten haben, stimmen mit den in der Literatur angegebenen nur zum Teil überein. Die Streuung ist bei uns wesentlich größer. Wir führen dies darauf zurück, daß wir die geschilderten zuverlässigen Bedingungen gewählt haben, um einer subjektiven Beeinflussung des Prüfers keinen Vorschub zu leisten.

In der Abbildung I sind die Ergebnisse aufgetragen. Dabei wurde der "Trefferbereich" gestrichelt und der unmittelbar angrenzende Bereich punktiert gezeichnet. Auf diese Weise ist bereits auf einen Blick zu erkennen, in welchen Bereichen eine gute Übereinstimmung zwischen den Ergebnissen der Dextrostix-Methode und der Referenzmethode vorhanden ist. Da die Ergebnisse an einem Krankengut gewonnen sind, das sich vorwiegend aus Diabetikern zusammensetzt, überwiegen die höheren Blutzuckerwerte. Die an sich gute Übereinstimmung im niedrigen Bereich (kleiner als 40 mg %) hat wegen der geringen Anzahl an Einzeluntersuchungen keine Aussagekraft. Auch im Bereich "40 - 65" sind noch zu wenig Fälle vorhanden. Erst vom nächsten Bereich an existiert eine genügend große Anzahl an Einzelfällen, die eine Auswertung ermöglichen. Aus der Abbildung I ist zu ersehen, daß im allgemeinen eher zu niedrige Werte als zu hohe Werte geschätzt werden. So ist z.B. im Bereich "40 - 65" kein Wert zu hoch geschätzt, aber mehr als 30 % der Werte sind unterschätzt. Im Bereich "65 - 90" sieht es ähnlich aus, während im Bereich "90 - 130" erstmals eine große Anzahl von niedrigeren Werten zu hoch geschätzt wurde. Für die nächsten beiden Bereiche, nämlich "130 - 150" und "150 - 200" fällt auf, daß die ganze Verteilung flacher verläuft, d.h. auch Werte mit einem Blutzucker über 200 mg% wurden auf "130 - 150" geschätzt. Es mag sein, daß beim Bereich "130 - 150" der flache Verlauf der Kurve auch

dadurch hervorgerufen wird, daß hier der Schätzungsbereich mit 20 mg % besonders schmal ist. In diesem Bereich finden sich aus dem gleichen Grunde auch die meisten Fehleinstufungen. Bei nur 20 % der diagnostizierten Werte entspricht die Schätzung der Blutzuckerkontrolle. Demgegenüber stimmen im nächsten Bereich ("150 - 200") 50 % der Werte überein und von jenen Werten, die auf über 200 mg % geschätzt wurden, sind lediglich weniger als 10 % der quantitativen Blutzuckerbestimmung niedriger als 200 mg %. Auch in dem niederen Bereich ist die Trefferquote höher, nämlich um 40 % - 60 %.

Nach unseren Ergebnissen ist die Trennung einer Hypoglykämie von einer Hyperglykämie mit der Dextrostix-Methode auf jeden Fall möglich. Bei 1164 Fällen wurden nur zwei Patienten, die einen Blutzuckerwert von 86 mg % bzw. 115 mg % hatten, fälschlicherweise über 200 mg % eingestuft. Drei Patienten mit Blutzuckerwerten über 200 mg % und zwei Patienten, deren Blutzucker knapp unter 200 mg % lag, wurden zwischen "90 und 130 mg %" eingereiht. Mit dem Dextrostixverfahren kann nur bis zu einer Grenzkonzentration von 200 mg % abgelesen werden. KUTTER und LEITZ schlagen deshalb vor, die Kontaktzeit von 60 Sekunden auf 15 Sekunden zu verringern (10). Nach den Angaben der Autoren können dann Ablesungen bis 400 mg % vorgenommen werden. Von KORP war festgestellt worden, daß zwei Drittel der nach der Dextrostix-Methode geschätzten Werte mit der Glucoseoxydase-Methode übereinstimmen (9). Der Autor hatte mit der Hagedorn-Jensen-Methode im Vergleich zu der Glucoseoxydase-Methode zum Teil eine schlechtere Übereinstimmung gefunden als zwischen der Dextrostix-Methode und der Glucoseoxydase-Methode.

Dagegen haben BRAAKER und DUBACH (2) bei 274 Untersuchungen mit einer geringen Anzahl von Einzeluntersuchungen und einer anderen Schätzmethode - die Autoren hatten Punktschätzen mit Bereichschätzen verbunden - trotzdem praktisch die gleichen Werte erhalten wie wir. Die Überein-

stimmung war im Bereich "130 - 150 mg %" am schlechtesten; im Bereich "65-90 mg%" fanden sich bei uns nur wenige in Wirklichkeit höhere Blutzuckerwerte. Von englischen Autoren wurden günstigere Ergebnisse berichtet (3,12,15). Von MacKAY und Mitarbeitern (11) war auf die unterschiedliche Schätzung bei verschiedenen Beobachtern hingewiesen worden. Dieser Autor hatte allerdings mit wesentlich kleinerem Zahlenmaterial gearbeitet.

In den Tabellen VI und VII sind die Ergebnisse verschiedener Prüfer niedergelegt. Die Prüfer hatten den gleichen Patienten mit dem gleichen Dextrostixstreifen untersucht (Tabelle VI) und den gleichen Patienten mit verschiedenen Teststreifen beurteilt (Tabelle VII); d.h. in letzterem Fall hatte jeder Prüfer für jeden Patienten seinen eigenen Dextrostixstreifen verwendet. Insgesamt kann in Übereinstimmung mit anderen Autoren gesagt werden, daß in den niedrigeren Schätzbereichen die Genauigkeit der Methode am größten ist. Hier werden die wenigsten Fehlbeurteilungen vorgenommen. In dem Bereich von "130-150 mg%" ist die Genauigkeit am geringsten. Wahrscheinlich liegt es daran, daß es sich hier - wie oben angeführt - um den engsten Bereich überhaupt handelt. Die Irrtümer beim Schätzen sind gering genug, um eine grobe Einstellung eines Diabetikers zu ermöglichen, wenn man zusätzlich noch die an sich unerläßlichen Harnuntersuchungen vornimmt. Wir halten es durchaus für denkbar, einen Patienten mit Hilfe der Harnzuckerausscheidung und des mit Dextrostix bestimmten Blutzuckers grob einzustellen. Trotzdem sollten genauere Laboratoriumsmethoden im allgemeinen bevorzugt werden. Eine Verwendung der Dextrostix-Methode zur Beurteilung von Tolbutamid-Tests ist von vornherein ausgeschlossen. Eine Verwendung der Dextrostix-Methode zur Beurteilung von oralen Glucosebelastungsproben wäre dagegen eher in Betracht zu ziehen.

Hier kommt es bekanntlich darauf an, daß ein bestimmter blutzucker-Grenzwert nicht überschritten wird. Wenn man

diesen Grenzwert scharf genug definiert, in jedem Zweifels-
 falle die Glucosebelastung wiederholt und dann gegebenen-
 falls mit einer Laboratoriumsmethode nachuntersucht, sollte
 sich doch die Mehrzahl der Diabetiker erfassen lassen.
 Z.B. läßt sich als Kriterium der 2-Stundenwert verwenden.
 Man müßte fordern, daß alle Patienten, deren Blutzucker-
 wert zwei Stunden nach oraler Belastung mit 100 g Glucose
 mehr als 130 mg % beträgt, nachuntersucht werden. Den
 Prüfern sollte in diesem Fall zusätzlich nahegelegt werden,
 jeden zweifelhaften Wert lieber über 130 mg % als unter
 130 mg % einzustufen. Aus der Abbildung I ist zu ersehen,
 daß bei unserem Vorgehen nur relativ wenige diabetische
 Personen nicht diagnostiziert worden wären. In diesem
 Bereich "90 - 130 mg %" ist unsere Prüfung nämlich sehr
 günstig ausgefallen. Nicht einmal 10 % der höheren Werte
 waren zu niedrig geschätzt worden. Das Verfahren wird
 zudem noch wesentlich vereinfacht, wenn man vom Prüfer
 lediglich die Entscheidung "mehr als 130 mg %" oder
 "weniger als 130 mg %" verlangt. Unter diesen Bedingungen
 dürfte sich der Test auch für Reihenuntersuchungen als
 geeignet erweisen.

VII. ZUSAMMENFASSUNG

An 1064 Patienten wurden vergleichende Untersuchungen zur Bestimmung der "wahren Glucose" durchgeführt. Gleichzeitig wurde die Brauchbarkeit des neuen Schnelltests Dextrostix an einem Material von 1164 Patienten untersucht.

Bei der statistischen Auswertung der Ergebnisse der vier Methoden zur Bestimmung der "wahren Glucose", nämlich Methode nach Frank und Kirberger, Glucoseoxydase-Peroxydase-Methode, o-Toluidin-Test und Hexokinase-Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase-Methode ergaben sich teilweise beträchtliche Differenzen zwischen den einzelnen Methoden. Die Methode nach Frank und Kirberger zeigt in allen Bereichen die am wenigsten vom gemeinsamen Mittelwert abweichenden Ergebnisse. Die Werte des o-Toluidin-Tests lagen meist etwas unterhalb des gemeinsamen Mittelwertes, während die Glucoseoxydase-Peroxydase-Methode und die Hexokinase-Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase-Methode meist Werte oberhalb des gemeinsamen Mittelwertes lieferten. Eine Aussage darüber, mit welchem Test wirklich die "wahre Glucose" bestimmt wird, ist nach den bisherigen Ergebnissen nicht zu machen. Die Differenzen zwischen den einzelnen Methoden sind jedoch durchaus nicht so gravierend, daß sie bei der Auswertung von Untersuchungen für die Praxis berücksichtigt werden müssen.

An einem großen Kollektiv von 1164 Personen wurde ferner der Wert der Dextrostix-Methode zur Blutglucosebestimmung überprüft. Als Referenzmethode diente der Mittelwert der vier Verfahren zur Bestimmung der "wahren Glucose", um der Dextrostix-Methode nicht die möglichen Fehler eines einzelnen Referenzverfahrens anzulasten. Für die Schnell Diagnostik am Krankenbett, für die Notfalldiagnostik (Differentialdiagnose: Hyperglykämie/Hypoglykämie) und - mit Einschränkungen - für Reihenuntersuchun-

gen erwies sich der Test als ausreichend zuverlässig. Die Übereinstimmung der Resultate wird maßgeblich bestimmt durch das individuelle Schätzvermögen, die Sorgfalt und die Erfahrung der Prüfer. Es wird deswegen gefordert, ein Urteil über das Leistungsvermögen des Tests erst nach längerem Einarbeiten der Prüfer abzugeben.

VIII. L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

1. Bartelmai, W. und R. Czok:
Enzymatische Bestimmung der Glucose
im Blut, Liquor und Harn.
Klin. Wschr. 40, 585 (1962)
2. Braaker, J. und U.C. Dubach:
Blutzuckerbewertung durch eine
enzymatische Schnellmethode mit
Teststreifen.
Dtsch.med.Wschr. 90, 1093 (1965)
3. Cohen, S.L., S. Legg and R. Bird:
A beside method of blood glucose
estimation.
Lancet 1964 II, 883
4. Förster, H., H. Mehnert und K. Stuhlfauth:
Vergleich von Laboratoriumsmethoden
zur Erkennung und Kontrolle des
Diabetes mellitus.
Münch. med. Wschr. 107, 1441 (1965)
5. Förster, H. und H. Mehnert:
Methoden der Kohlenhydratbestim-
mungen.
Hdb. der Kinderheilkunde
Berlin-Heidelberg-New York,
Springer (1966)
6. Frank, H. und E. Kirberger:
Eine kolorimetrische Methode zur Be-
stimmung der wahren Glucose und
Galactose in 0,05 ml Blut.
Biochem. Z. 320, 359 (1950)
7. Huggett, A. St. G. and D. A. Nixon:
Enzymic determination of blood glucose.
Biochem. J. 66, 12 P (1957)

3. Hultmann, E. : Rapid specific method for
determination of aldosesaccharides
in body fluids.
Nature (London) 183, 108 (1959)
9. Korp, W. : Eine neue Blutzuckerschnellbe-
stimmung am Krankenbett (Dextrostix).
Wien. med. Wschr. 90, 1093 (1965)
10. Kutter, D. und M. Leitz:
Die Bestimmung hoher Blutzucker-
werte mit Dextrostix.
Therapie der Gegenwart 105, 495 (1966)
11. MacKAY, N., A. Gordon and J.M. Neulson:
Observer error in Dextrostix
estimations of blood sugars.
Lancet II, 269 (1965)
12. Rennie, I.B.D., H. Keen and A. Sonthon:
A rapid enzyme-strip method for
estimating blood sugar.
Lancet 1964 II, 884
13. Schmidt, F. H. : Die enzymatische Bestimmung von
Glucose und Fructose nebeneinander.
Klin. Wschr. 39, 1244 (1961)
14. Schmidt, F. H. : Methoden der Blut- und Harnzucker-
bestimmung unter besonderer Berück-
sichtigung enzymatischer Verfahren.
Fortschritt der Diabetesforschung,
Hrg. K. Oberdisse und K. Jahnke,
Stuttgart, Thieme (1963), S. 76
15. Wilson, I. V. : Enzyme-strip method for
estimating blood sugar.
Lancet 1964 II, 1062

Herrn Priv. Doz. Dr. H. Mehnert danke ich für die Überlassung des Themas. Außerdem danke ich ihm und Herrn Dr. H. Förster für ihre Unterstützung und für ihr stetiges Interesse an dem Fortgang der Untersuchungen, sowie für ihre Hilfe bei der statistischen Auswertung. Außerdem bin ich Herrn Prof. Dr. W. Seitz zu Dank verpflichtet, daß ich in seiner Klinik arbeiten durfte.

Lebenslauf

Ich, Herbert Zilbauer, wurde am 25.1.1940 als Sohn des Verwalters Hans Zilbauer und seiner Ehefrau Barbara, geb. Ries in Vohenstrauß geboren. Nach 5-jährigem Besuch der Volksschule trat ich 1951 in das Humanistische Gymnasium Cham ein. Nach bestandener Reifeprüfung immatrikulierte ich im Herbst 1960 an der Universität Würzburg für das Studium der Medizin. Nach zwei Semestern legte ich die naturwissenschaftliche Vorprüfung ab und nach sechs Semestern bestand ich im Sommer 1963 die ärztliche Vorprüfung. Seit dem Wintersemester 1963/64 studierte ich an der Ludwig-Maximilians-Universität zu München. Im Dezember 1966 bestand ich das medizinische Staatsexamen.

